

ゲノム医療における検体検査の品質確保に関する提言(がんゲノム医療推進を踏まえて)

日本臨床検査医学会

今日、ゲノム医療実現推進のため、国レベルで、研究基盤整備に続き、医療サービス環境や社会環境の整備が図られています。検体検査の精度・品質確保に関する医療法等の改正が2017年6月14日に公布され、施行まで1年となりました。この度、2017年6月27日に「がんゲノム医療推進コンソーシアム懇談会」の報告書が公表されたのに続き、10月18日には、がんゲノム医療中核拠点病院等の整備に関する指針(案)が提示されました。しかしながら、ゲノム医療推進、特にがんゲノム医療推進の政策実装において、良質なゲノム医療を支える遺伝子関連検査の精度・品質確保に関する議論と反映は十分とは言えない状況にあると懸念されます。そこで、日本臨床検査医学会では遺伝子委員会を中心に、現状の課題整理を行い、提言としてまとめました。

1. 遺伝子関連検査は、がんをはじめとする個別患者の診断・治療における意思決定を左右することから、精確な検査結果を得るために分析的妥当性の確保は患者診療上きわめて重要である。また、遺伝子関連検査の分析的妥当性の確保は、ゲノム医療推進にとって重要な臨床的妥当性と臨床的有用性のエビデンス作成と蓄積の大前提となる。医療関係者のみならず、医療政策立案者、そして国民の関心と理解が必要である。

2. 上記に対して以下の取り組みが望まれる。

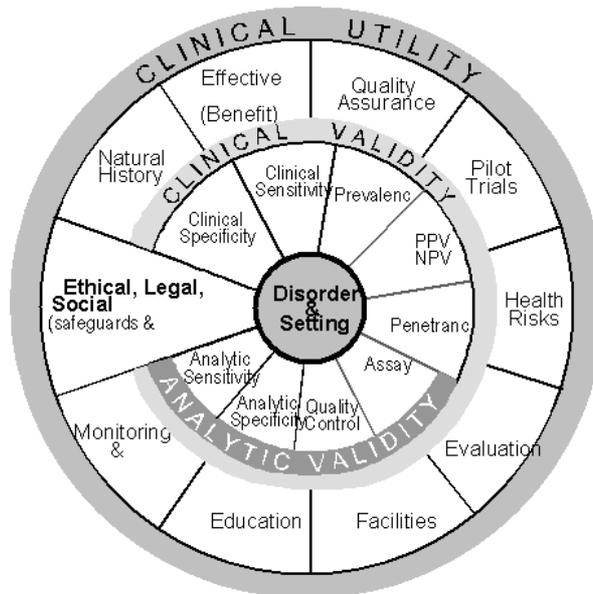
- 1) 遺伝子関連検査の分析的妥当性の評価に精通した検査専門家が規制当局と協働する体制・環境整備が必要である。
- 2) 医療機関自らが実施する検査や登録衛生検査所が受託(測定データ・報告)する検査について、産学連携のもと、同様の品質保証の体制整備が重要である。
- 3) 検査実施において、測定者のみならず、品質・精度管理の責任者・指導者、第三者認定の審査員の養成が必要である。
- 4) 検査結果の解釈と利用には、複雑な検査プロセスの課題に精通した検査の品質・精度管理の責任者が参画することが望ましい。
- 5) 卒前・卒後の医学教育に、遺伝子関連検査の品質保証に関するプログラムを含むゲノム医療のカリキュラムが必要である。
- 6) 品質保証のため、国として臨床検査に関する基盤研究の推進が望まれる。

## 解説

遺伝子関連検査の技術の進歩とゲノム情報が、遺伝病の診断やがん治療分野のコンパニオン診断として実臨床に用いられるようになってきた。また、数多くの遺伝子変異を一度に包括的に検査する次世代シーケンサ(NGS)を用いた遺伝子パネル検査が行われ、患者ごとに有効な薬剤の選択などに用いられるようになってきた。この時代背景を受けて、本年6月27日に「がんゲノム医療推進コンソーシアム懇談会」の報告書が公表された。さらに、10月18日には、がんゲノム医療中核拠点病院等の整備に関する指針(案)も提示された。この中で、このがんゲノム医療を推進するために必要と掲げられている部署として、臨床検査室(遺伝子パネル検査を行う)、病理検査室(病理検体を扱う)、遺伝子診療部(遺伝カウンセリングなど)、エキスパートパネル(検査結果を医学的に解釈する多職種検討会)、ゲノム情報管理センター、ELSI部門、臨床研究部門の関与が記載されている。

信頼性の高い結果を得て遺伝子検査(遺伝学的検査)を科学的に評価するためにACCEモデルが米国疾病管理予防センター(CDC)によって2000年に提唱されている。ACCEは、analytic validity(分析的妥当性)、clinical validity(臨床的妥当性)、clinical utility(臨床的有用性)とethical, legal and social implications(倫理的法的社会的問題)の4つの基準の頭文字をとったものである

(<https://www.cdc.gov/genomics/gtesting/ACCE/>)。すなわち、臨床的妥当性、臨床的有用性を論じるためには、精確な検査結果を得ることが重要であり、まず分析的妥当性を担保することが必須である。



ACCEモデルで分析的妥当性として例示されているのは以下のものである。

1. 検査は定量的なものか、定性的なものか。
2. 変異があるときに、どれくらいの割合で陽性となるか(感度, sensitivity)。
3. 変異がないときに、どれくらいの割合で陰性となるか(特異度, specificity)。
4. 内部精度管理をしているか
5. 外部精度管理をしているか
6. 精密度(繰り返し分析したときの再現性はどうか)
7. 検査室内での精密度、検査室間の精密度
8. 偽陽性を避けるための確認試験は
9. どんな状態の試料で検査したか
10. 正しい結果を出せない確率は
11. 多施設で検査したときにどれくらい似通った結果が得られたか

さらに CDC は、ゲノムやエクソームも含め NGS を用いたシーケンス解析の活用を見込み、「Assuring the Quality of Next-Generation Sequencing in Clinical Laboratory Practice」(2012)を作成し、NGS の全ての工程 (たとえば、DNA 抽出、濃縮、ライブラリ作製、データ解析) で確認が必要としている(表1)<sup>1)</sup>。また、CAP (College of American Pathologists) から臨床シーケンスの規格が公表され(表2)<sup>2)</sup>、7つの解析プロセスと11のバイオインフォマティクス・プロセスのラボ認定の必要要件チェックリストが示されている。すなわち、wet な解析プロセスと dry なバイオインフォマティクス・プロセスを別々に管理することが大切とある。

表1. NGS 検査システムを臨床応用するための勧告<sup>1)</sup>

要求事項	目的	NGS 特異的な勧告
バリデーション	患者試料の検査前に、プラットフォーム、検査、インフォマティクスパイプラインに関する文書の信頼性を確認	プラットフォームのバリデーション: 検査の検出標的とされるゲノム領域に渡る、信頼できるシーケンス解析を提供するシステムを確立する
		検査のバリデーション: ゲノムの検出標的領域にある疾患関連バリエーションについて、システムが正しく同定することを確立する
		インフォマティクスのバリデーション: 正確なシーケンスを生成するために、プラットフォームデータをアルゴリズムが信頼性をもって分析することを確立する
		問題のあるゲノム領域であっても、高品質なシーケンスデータを得るために、別の方法を確立し、信頼性をみる。
精度管理	患者の検査中のシーケンス解析に関する文書の信頼性	精度管理用試料は、検出するようデザインされたゲノムの複雑性と変異のタイプをなぞらせるよう、内因性のものやスパイクインなどを組み合わせて使用する。
		患者の検査中に、品質基準(たとえば、品質スコア、深度、カバーの均一性、マッピングの質、GC バイアス、トランジションとトランスバージョンの比)が評価され、バリデーション中に確立されたものと比較されるべきである。
		臨床的に行動を起こすべき所見(actionable findings)は、別の方法で独立して解析されることによって、確認されるべきである。
技能試験	検査性能の独立した評価	技能試験は、シーケンス解析の信頼性を測定するために、その検査で対象となるゲノム領域にある疾患関連の変化も、自然に生じているシーケンスの変化も解析の標的にすべきである。
		電子的なシーケンスのファイルは、検査室を越えて塩基配列やバリエーションコーリングの方法を比較することを可能としてもよいが、プラットフォームの違いを追加で考慮することを必要とするだろう。
		技能試験プログラムは、検査室間の能力を適切に比較するために、個々の検査室の測定法で標的とされるゲノム領域が異なることを配慮すべきである。
標準物質	検査の分析相における品質管理のための物質の利用	自然に生じているもの、疾患関連の塩基配列の両方を有する標準物質が、検査のバリデーション、精度管理方法、検査の性能の独立した評価に必要である。
		合成 DNA や電子的な参照データファイルは、稀な、もしくは挑戦的な塩基配列のための標準物質として使ってよい。
		適切な NGS の標準物質を確立するために努力すべきであり、標準物質の配列は技術の変化に応じて改良すべきである。このような標準物質は、シーケンスの信頼性が高いか低いかかわかるように注釈をつけるべきである。

表2. NGS を用いた臨床シーケンスを行うためのチェックリスト(CAP、NGS ワークグループ)<sup>2)</sup>

解析プロセス Wet Bench Process	標準作業手順書 (SOP)
	バリデーション
	品質マネジメントプログラム
	バリエーションの確認検査
	ラボの記録
	例外的なログ
	アップグレードのモニタリング
バイオインフォマティクス・プロセス	標準作業手順書 (SOP)
	バリデーション
	品質マネジメントプログラム
	アップデート
	データの保管
	バージョン・トレーサビリティ
	例外的なログ
	データ移管時の機密保持の方針
	バリエーションの解釈と報告
	偶発所見の報告
	委託業務の方針

一方、外部機関による臨床検査室の技術能力についての施設認定(第三者認定)に関する国際認定としては、ISO 15189 があり、本邦でも平成 29 年 11 月現在、120 を超える施設が臨床検査室の認定を取得するまでになった。臨床検査の質保証のためには、国際標準である ISO 15189:2012 の5章に記載されている技術的要件を満たすことが大切である。そこで、遺伝子パネル検査の質保証に関わる内容を抜粋し(番号と項目は ISO 15189:2012 の用語)、遺伝子パネル検査を適正に行う検査手順として構築すると、おおよそ以下のような手順となる。なお、遺伝子パネル検査には wet(実験室で行うタイプの核酸抽出からライブラリ作製、NGS で解析し生データを得る作業)と dry(コンピュータを用いて NGS の生データを加工、フィルタリングして有意なデータのみまとめ上げ、意味づけする作業)のプロセスがあることは先述した CAP の報告の通りである。従って、遺伝子パネル検査の質保証に関しては、両者の過程を別々に配慮した上で、さらに両者合算の最終的な結果報告が検査室から発信されることを認識しておくべきであり、最終報告に至る過程全体で以下の技術的要求事項を満たすことが肝要である。

### 5.5 検査プロセス

遺伝子関連検査、特に遺伝子パネル検査は Laboratory Developed Test (LDT)で運用されているものが多いため、検査全体の妥当性確認、および検査手順の性能特性を評価して、検査手順全体を含めて文書化しておく必要がある。ここでいう性能特性とは、測定の真度 (Trueness)、測定の精確さ (accuracy)、測定の併行精度 (同時再現性、repeatability) 及び測定の間中精度を含む測定の精密度 (precision)、測定不確かさ (uncertainty)、分析特異性 (analytical specificity)、干渉物質を含む、分析感度 (analytical sensitivity)、検出限界及び定量限界 (detection limit and quantitation limit)、測定範囲 (measuring interval)、診断特異性 (diagnostic specificity)、診断感度 (diagnostic sensitivity) の事項が含まれることが望ましいとされるため、遺伝子パネル検査においてもこれに準じた性能特性を明らかにしておく必要がある。

## 5.6 検査結果の品質の確保

適切な検査前プロセス、検査後プロセスを実行し、検査の精度管理を行わなければならない。

内部精度管理としては、患者試料と近い性質を有する精度管理物質 (quality control materials) を定期的に測定して継続的に監視し、患者試料の測定結果の質保証を行う。ここで使用する精度管理物質は既知の変異を導入した人工の DNA 標品など市販品も利用する。また、分析の正確性をみるためには、品質管理用の標準物質 (reference standards) が必要である。この標準物質は、測定法が異なっても相互互換性 (commutability) が保たれていることが望ましい<sup>3)</sup>。

外部精度管理としては、得られた検査結果および検査結果の解釈が適正に行われているかどうかを、検査室間比較プログラム (外部精度管理調査、技能試験など) に参加して、自施設の能力を見極め、所定の性能基準を逸脱している場合は是正処置を行う。しかし、検査室間比較プログラムが不可能な場合は、認証標準物質、過去に検査した試料、他の検査室との試料の交換 (ブラインドテスト)、検査室間比較プログラムで使用される管理物質などを測定することによって代替措置とせざるを得ない場合がある。その場合は、結果を判定する基準を予め定義しておき、厳密に判定すべきである。

## 5.7 検査後プロセス

結果を報告する前に、検査室の責任者が結果をレビューし、検査が適切に行われたかどうかを確認した上で最終判断を行う。試料などの保管や廃棄は、予め決めたおいた約束事に従って行う。

## 5.8 結果の報告

予め決めてある検査手順、結果報告のフォーマットに従い、検査結果の解釈に必要な情報を含めて報告する。その際、試料の品質に起因する結果の信頼性、緊急対応すべき結果、その他コメントを付記する。

以上のように、分析的妥当性では、上記の内容を評価・把握することになるが、簡単にできるものではない。特に遺伝子パネル検査では、NGS での分析自体とそれから得られる遺伝子変異の種類や意味づけ、アレル頻度などの結果、すなわち wet な解析プロセスと dry なバイオインフォマティクス・プロセスの合算で得られた結果が精密かつ正確 (precision and accuracy) に提供されなければならない。この分析的妥当性が確保されていない場合、エキスパートパネルでの結論も信頼性の乏しいものとなる。従って、精確な検査結果を得るための遺伝子パネル検査を含む遺伝子関連検査の分析的妥当性の確保に関して、医療関係者のみならず医療政策立案者、そして国民の関心と理解が必要であると結論づけ、本提言を提出するものである。

## 参考情報

### 1. NGSを用いた精度管理物質の具体例

体細胞遺伝子変異の NGS 用の標準物質はまだあまりないが、以下の2つを紹介する。

Horizon Diagnostics 社は、遺伝子情報が明確なヒト細胞株から 30 ほどのがん関連遺伝子に複数の変異を導入して作製したゲノムサンプルを NGS のキャリブレーションとした。これらの変異の割合はデジタル PCR で検証してあるため、一緒に提供される正常細胞のゲノムと適宜混合してアレル比の既知サンプルを調製して使用することで、NGS の精度管理に使用できる。

Thermo Scientific AcroMetrix Oncology Hotspot Control (サーモフィッシャー社)は体細胞変異を検出する NGS シーケンス解析用の多項目の精度管理用試料である。NIST (National Institute of Standards and Technology) 推奨の GM24385 という正常細胞を用い、53 個のがん関連遺伝子に一塩基置換や挿入・欠落など 500 以上の変異を導入してある。欧米で CE/IVD を取得しており、癌パネルで NGS 解析する際に、ライブラリの準備から NGS 分析、データ解析の過程の精度管理に使用できる。

また、遺伝子パネル検査は方法によって、また検査室によって同じ結果が出なければならない。そのためには、品質管理用標準物質 (reference standards) が必要であり、測定法が異なっても相互互換性 (commutability) が保たれている (患者試料と同じ反応性を示す) ことが望ましい<sup>3)</sup>。

### 2. NGS のプラットフォームが異なることによる結果の相違例

9 人の種々のがん患者で、FoundationOne (Foundation Medicine) と The Guardant360 (Guardant Health) という 2 社の提供する NGS 検査を行った結果が報告されている<sup>4)</sup>。FoundationOne は腫瘍細胞の 315 個のがん関連遺伝子と、再構成の頻度が高い 28 個の遺伝子のイントロンを調べるもので、Guardant360 は血液中の cfDNA を試料として 70 遺伝子を調べるものである。

1 人のがん患者は、いずれにおいても遺伝子異常が検出されなかった。残り 8 人には 45 個の遺伝子異常が検出され、そのうち 10 個 (22%) は 2 つの方法いずれでも検出された。2 人は 2 法の報告書が全く一致しなかった。8 人で検出された遺伝子異常から 36 種類の治療薬が示唆されたが、同じ患者で 2 法が一致したのはわずか 9 種類の治療薬のみであった。また、5 人の患者では 2 法で共通して示唆された治療薬はなかった。以上のように、どのプラットフォームで遺伝子検査をするかによって治療法が変わるリスクがある。

### 3. ISO 15189 と CLIA (Clinical Laboratory Improvement Amendments of 1988)

CLIA は米国の臨床検査室の品質保証基準 (法律) であり、米国においてはヒト検体を使用する全ての臨床検査室が CLIA に適合し登録・認証されることが求められている。わが国における臨床検査室 (病理検査を含む) の外部評価基準としては ISO 15189 を用いている。

## 引用文献

- 1) Gargis AS, *et al. Nat. Biotechnol*, 30, 1038/nbt.2403 (2012)
- 2) Aziz N, *et al. Arch Pathol Lab Med*, 139, 481 (2015)
- 3) Hardwick SA, *et al, Nature Rev Genet* 18, 473 (2017)
- 4) Kuderer NM, *et al. JAMA Oncol*, 3, 996 (2017)